

Afdeling Diergeneesmiddelen 1986-04-29

RAPPORT 86.73 Pr.nr. 505.0600

Onderwerp: Ontwikkeling van een FAST-LC
methode voor een aantal nitrofuranen in
ei.

Verzendlijst: directeur, sectorhoofd, directie VKA, afdeling Dierge-
neesmiddelen, Projectbeheer, circulatie

Afdeling Diergeneesmiddelen

1986-04-29

Rapport 86.73

Pr.nr. 505.0600

Project: Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van diergeneesmiddelen op niet microbiologische wijze.

Onderwerp: Ontwikkeling van een FAST-LC methode voor een aantal nitrofuranen in ei.

Voorgaand verslag 85.116

Doel:

Het bepalen en/of screenen van de belangrijkste nitrofuranen in ei met behulp van FAST-LC op een meetniveau van 10 ppb.

Samenvatting:

Er is een FAST-LC methode voor nitrofurantoin, nitrofurazon, furazolidon en furaltadon in ei ontwikkeld. Evenals bij vlees en melk worden door toepassing van het FAST-LC systeem monsters "on-line" automatisch geanalyseerd.

Conclusie:

Nitrofurantoin, nitrofurazon en furazolidon zijn vanaf een niveau van 10 ppb goed analyseerbaar in monsters ei. Furaltadon vanaf 20 ppb. De methode is toepasbaar op ei poeders vanaf een niveau van 20 ppb om te screenen.

Verantwoordelijk: drs M.M.L. Aerts

Medewerker/samensteller: W.M.J. Beek

Projectleider: drs M.M.L. Aerts

1. Inleiding

In de huidige intensieve pluimveehouderij worden regelmatig nitrofuranen toegepast in gemedicineerde voeders of in drinkwater. Nitrofuranen zijn medicinale stoffen met een breed werkingsspectrum. Ze worden ingezet bij de behandeling van darminfecties. De toepassing van deze middelen kan aanleiding geven tot residuen in met name vlees en eieren (5.1).

In de Verenigde Staten mogen geen residuen in vlees en eieren aantoonbaar zijn (nultolerantie). Alleen indien voldoende lange wachttermijnen worden aangehouden kunnen deze middelen worden toegepast.

Bij leghennen dienen tijdens b.v. furazolidon medicatie en wachtperiode geen eieren in de handel te worden gebracht, aangezien tot ongeveer 5 dagen na medicatie residuen aantoonbaar zijn (lit. 1).

Om dit te kunnen controleren zijn snelle, eenvoudige en goedkope analysemethoden noodzakelijk op een laag meetniveau. Gezien de toxiciteit en mutageniteit van deze middelen is een controle-niveau van 10 ug/kg in eieren wenselijk.

Met de reguliere, microbiologische controle worden alleen zeer hoge concentraties geconstateerd (> 20 mg/kg).

Door gebruik te maken van chemische methodieken zoals hogedrukvlloeistofchromatografie is het mogelijk om op een laag niveau te meten (10 ppb).

Veelal worden de afzonderlijke middelen geanalyseerd met vrij bewerkelijke methoden (lit. 1).

Door simultaan een klasse van stoffen te analyseren (multimethode) kan de controle worden vereenvoudigd.

Petz (lit. 2,3) heeft methoden beschreven waarbij enkele nitrofuranen gelijktijdig geanalyseerd konden worden in eieren. Hierbij zijn nog steeds veel manuele handelingen vereist zodat controle op grote aantallen monsters erg bewerkelijk is. Met een FAST-LC systeem konden monsters vlees en melk geheel geautomatiseerd opgewerkt en geanalyseerd worden vanaf een niveau van 10 ppb (lit. 4).

Nagegaan is in hoeverre deze methode ook toepasbaar is voor ei en ei-poeders.

2. Opzet van het onderzoek

2.1 Systeemomstandigheden.

Er werd uitgegaan van hetzelfde systeem en meetomstandigheden als bij de analyse van nitrofuranen in vlees en melk met behulp van FAST-LC (lit. 5). Bij dit onderzoek werd echter gekozen voor een dialyser met dubbele lengte (twee dialysers van 24 inch achter elkaar gekoppeld).

2.2 Methode.

Struif van een ei werd gemengd met behulp van een Ultra-Turrax.

Hierna werd 10 ml van het mengsel verdund met 10 ml fysiologische zoutoplossing.

Om afbraak (oxidatieve, microbiologische) tegen te gaan werd 3 ml natriumazide-oplossing (100 g/l) toegevoegd.

Na mengen werden de monsters onder dezelfde omstandigheden gemeten als bij nitrofuranen in vlees en melk (lit. 4). Voor ei-poeder wordt eenzelfde opwerking toegepast.

Bij 2 g ei-poeder werd 20 ml fysiologische zoutoplossing toegevoegd en 3 ml natriumazideoplossing (100 g/l). Na mengen volgt eenzelfde analyse als bij volei (2 g ei-poeder \approx 10 g volei).

3. Discussie en resultaten

Ei-struif wordt verdund met fysiologische zoutoplossing, alvorens te worden gemeten.

Om stabiele oplossingen te verkrijgen, welke uren bewaard kunnen worden zonder dat er microbiologische en/of oxidatieve afbraak plaatsvindt (24 uur) wordt er een natriumazideoplossing toegevoegd. Proefondervindelijk bleek deze methode, welke toegepast werd bij onderzoek van vlees en melk, niet direkt toepasbaar. De concentratie van de toe te voegen azideoplossing moest worden verhoogd van 10 g/l naar 100 g/l.

Door iets meer azide toe te voegen konden stabiele oplossingen worden verkregen. Met de gewijzigde monsteropwerking kon met de reeds ontwikkelde methode voor vlees en melk, ei worden onderzocht op de vier nitrofuranen. De elutievolgorde bij HPLC was nitrofurazon, nitrofuran-toïne, furazolidon en furaltadon.

In het belangrijke meetgebied van 10-50 ppb bleek een lineair verband tussen concentratie (in gespikete monsters) en piekhoogte, gedurende lange tijd (24 uur) gewaarborgd.

De recovery ten opzichte van een standaardoplossing (zonder eistruif) bedroeg 50% voor alle nitrofuranen. De gevoeligheid t.o.v. metingen bij vlees en melk waar 90-95% is bereikt is hierdoor gehalveerd.

Binding aan ei-componenten lijkt hiervoor verantwoordelijk. Daarnaast is de viscositeit van een eimonster hoger dan van een melk of vlees monster. Hierdoor wordt de monsternamen-flow lager en dus de hoeveelheid geanalyseerd monster. Door inzet van een dubbele dialyser, waardoor een ongeveer dubbele opbrengst werd bereikt kon toch nog dezelfde gevoeligheid worden bereikt. De methode voor ei bleek niet toepasbaar op eipoeders (commercieel verkrijgbaar). Er konden hier geen reproduceerbare ijklijnen worden verkregen voor de nitrofuranen. Voor eipoeders is alleen een screening mogelijk vanaf ca. 20 ppb.

4. Conclusie

Nitrofurantoin, nitrofurazon en furazolidon zijn vanaf een niveau van 10 ppb goed analyseerbaar in eimonsters. Furaltadon vanaf 20 ppb. Vanaf 10 resp. 20 ppb is een lineair verband tussen concentratie en signaal. De methode is niet toepasbaar op eipoeders. Voor eipoeders is alleen een screening mogelijk vanaf een niveau van 20 ppb.

5. Literatuur

5.1 Determination of furazolidone Residues in Eggs by HPLC followed by confirmation with a Diode Array UV-Vis Detector.

W.M.J. Beek and M.M.L. Aerts.

Z. Lebensmittel Unters. Forsch 180 (3), 211-214, 1985.

5.2 Verfahren zur Rückstandsanalytischen Bestimmung von Furazolidon und vier weiteren Nitrofuranen in Eieren, Milch und Fleisch durch HPLC.

M. Petz

Deutsche Lebensmittel-Rundschau (78 Jahrg) Heft 11, 1982, pp. 396-401.

5.3 Hochdruckflüssigchromatografische Rückstandsanalyse von Chloramphenicol, Furazolidon und fünf Sulfonamiden in Eieren, Fleisch und Milch

M. Petz

Z. Lebensm. Unters. Forsch (1983) 176 pp. 288-293.

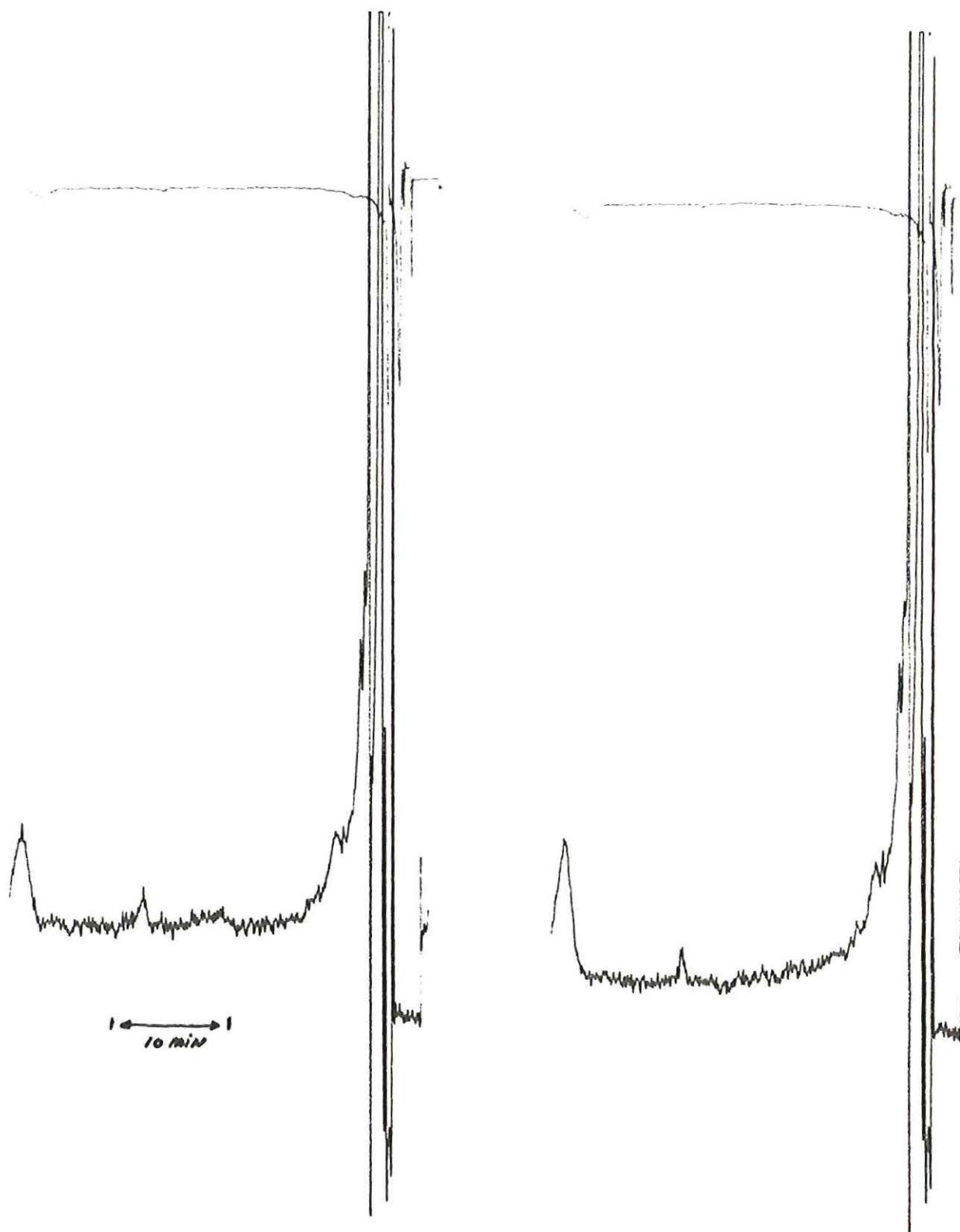
5.4 Ontwikkeling van een FAST-LC methode voor een aantal nitrofuranen in vlees en melk.

RIKILT-rapport 85.116.

Bijlagen:

1. Chromatogrammen blanco eimonsters.
2. Chromatogrammen eimonsters resp. 12 en 18 ppb niveau.
3. Chromatogrammen eimonsters resp. 24 en 36 ppb niveau.
4. Chromatogrammen eiapoeder resp. blanco en 24 ppb niveau.
5. IJklijnen concentratie-piekhoogtes.
6. Intern Analysevoorschrift A 461.

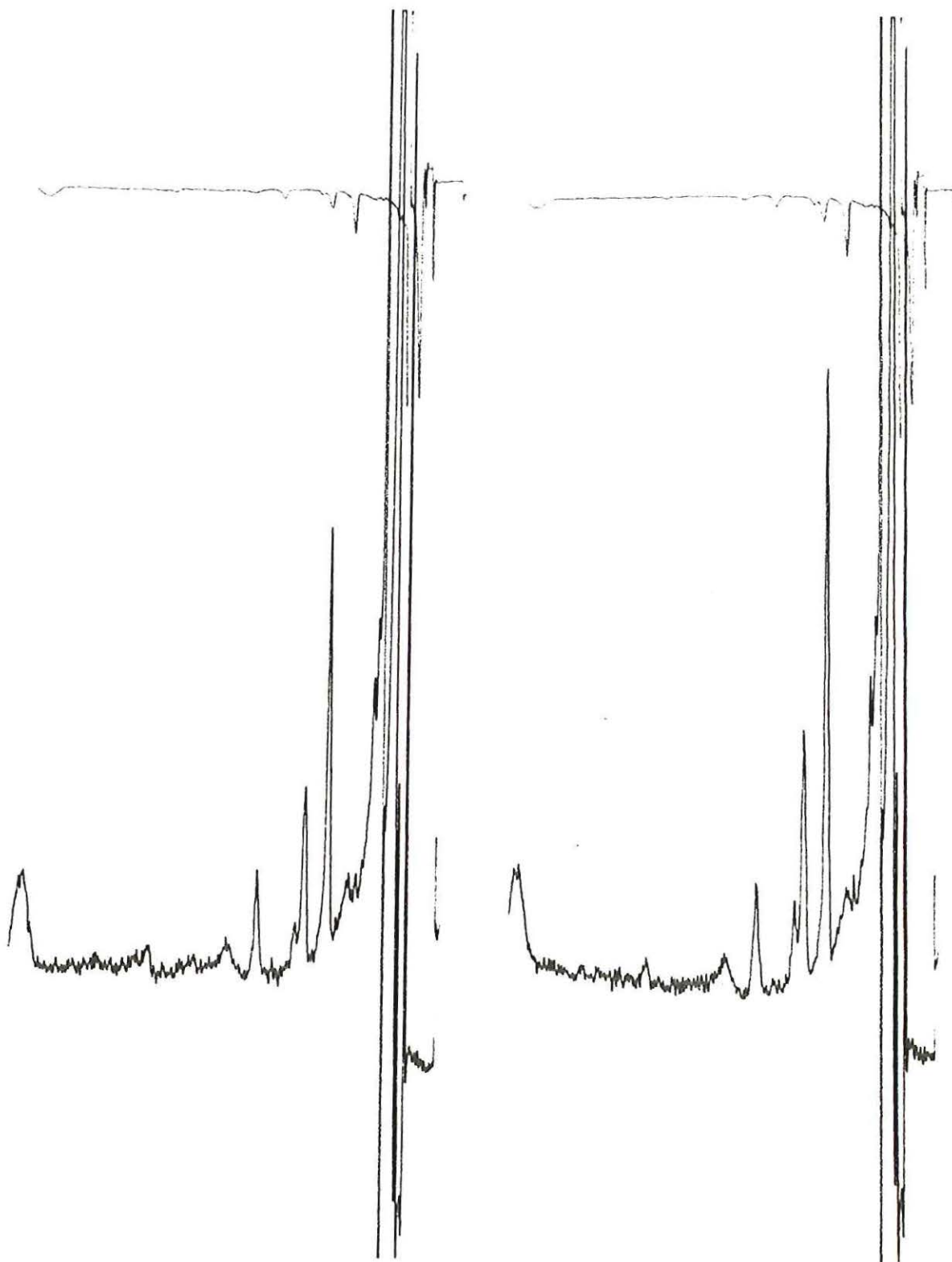
Blanco - ei



Spiked -ei°

12 µg/lp

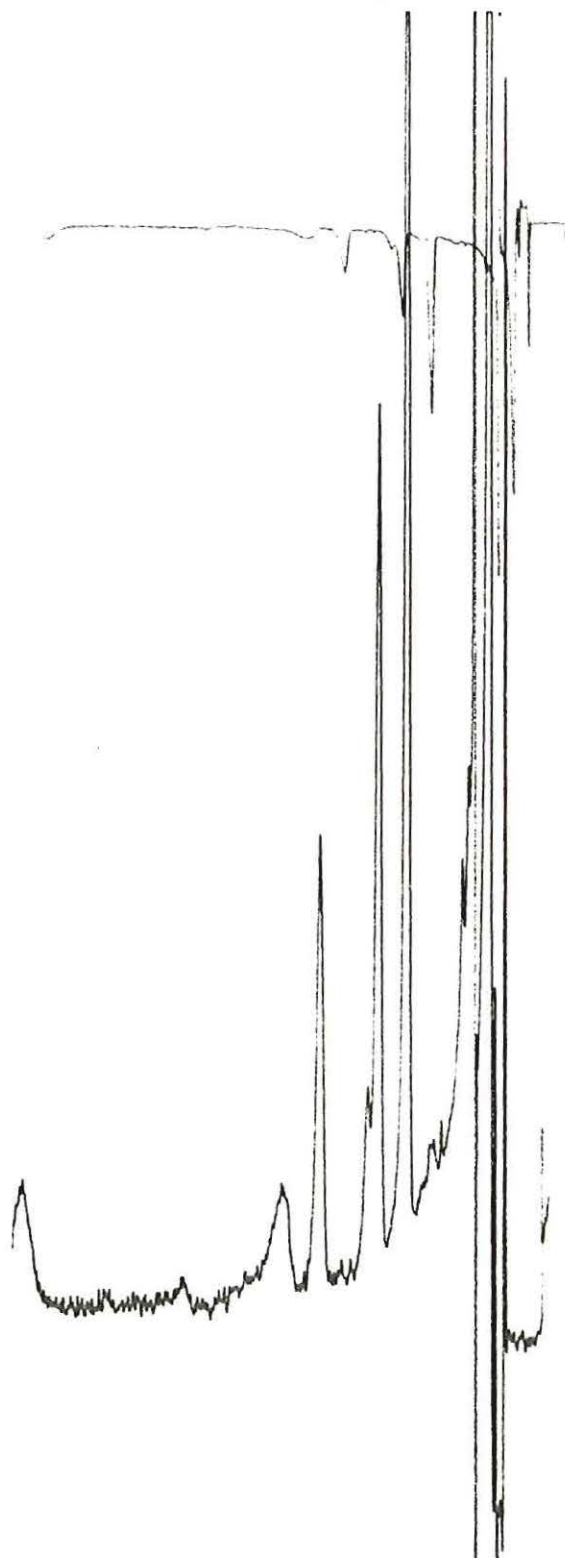
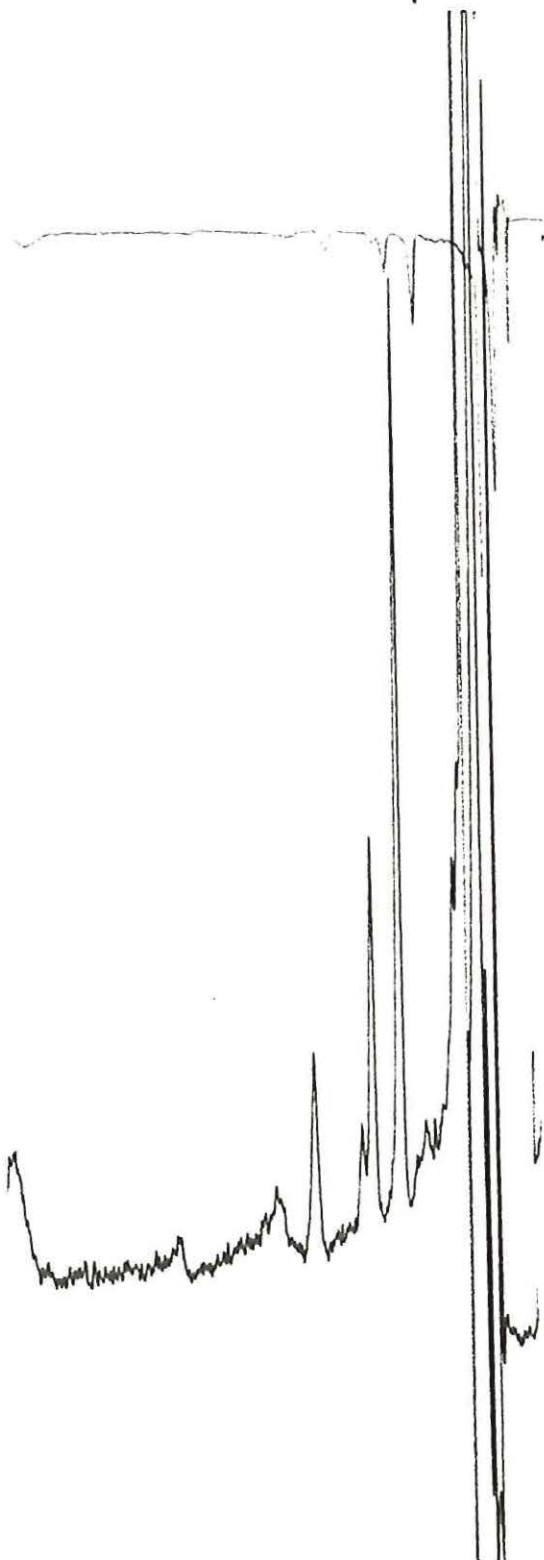
18 µg/lp



Spiked - ei.

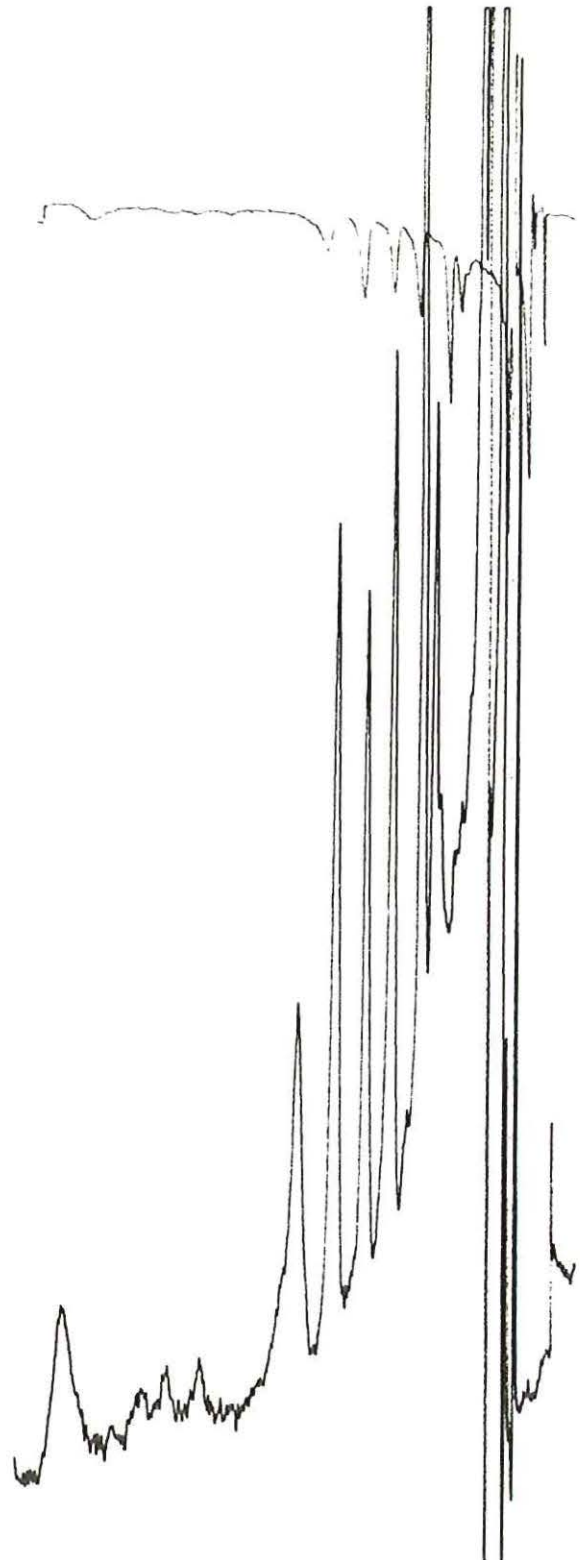
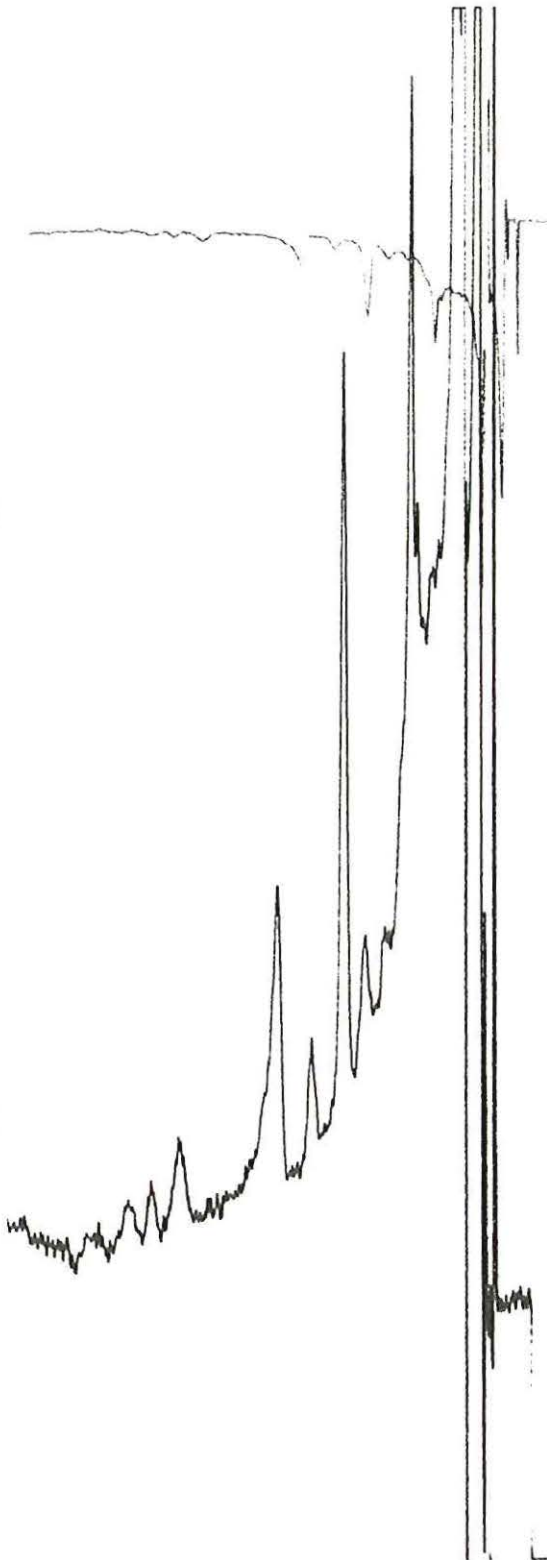
24 μ lp

36 μ lp.

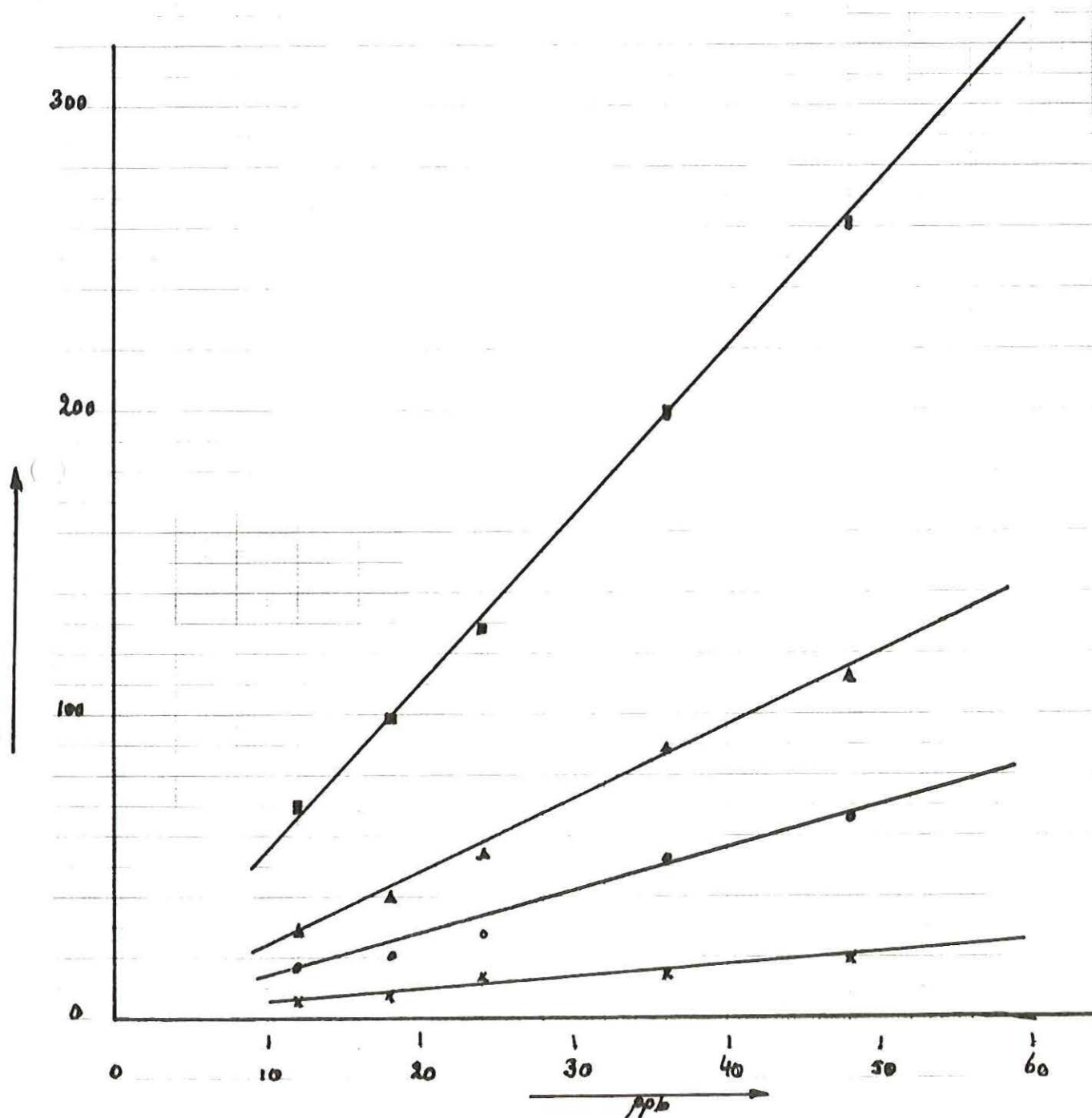


Blanco-eipoder.

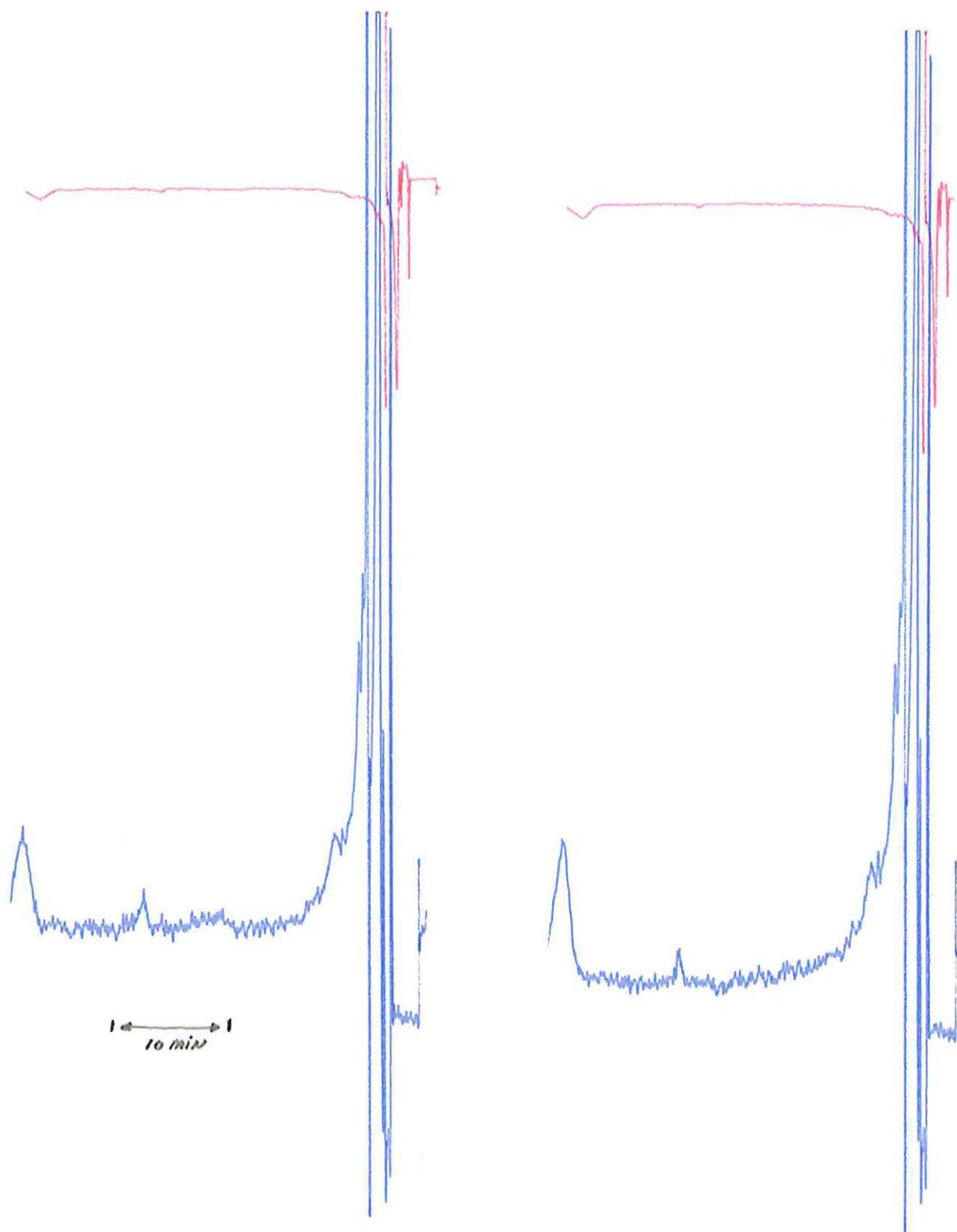
Spiked eipoder 24 µg/kg



- nitrofurazon
- ▲ nitrofurantolne
- furazolidon
- × furaltadon



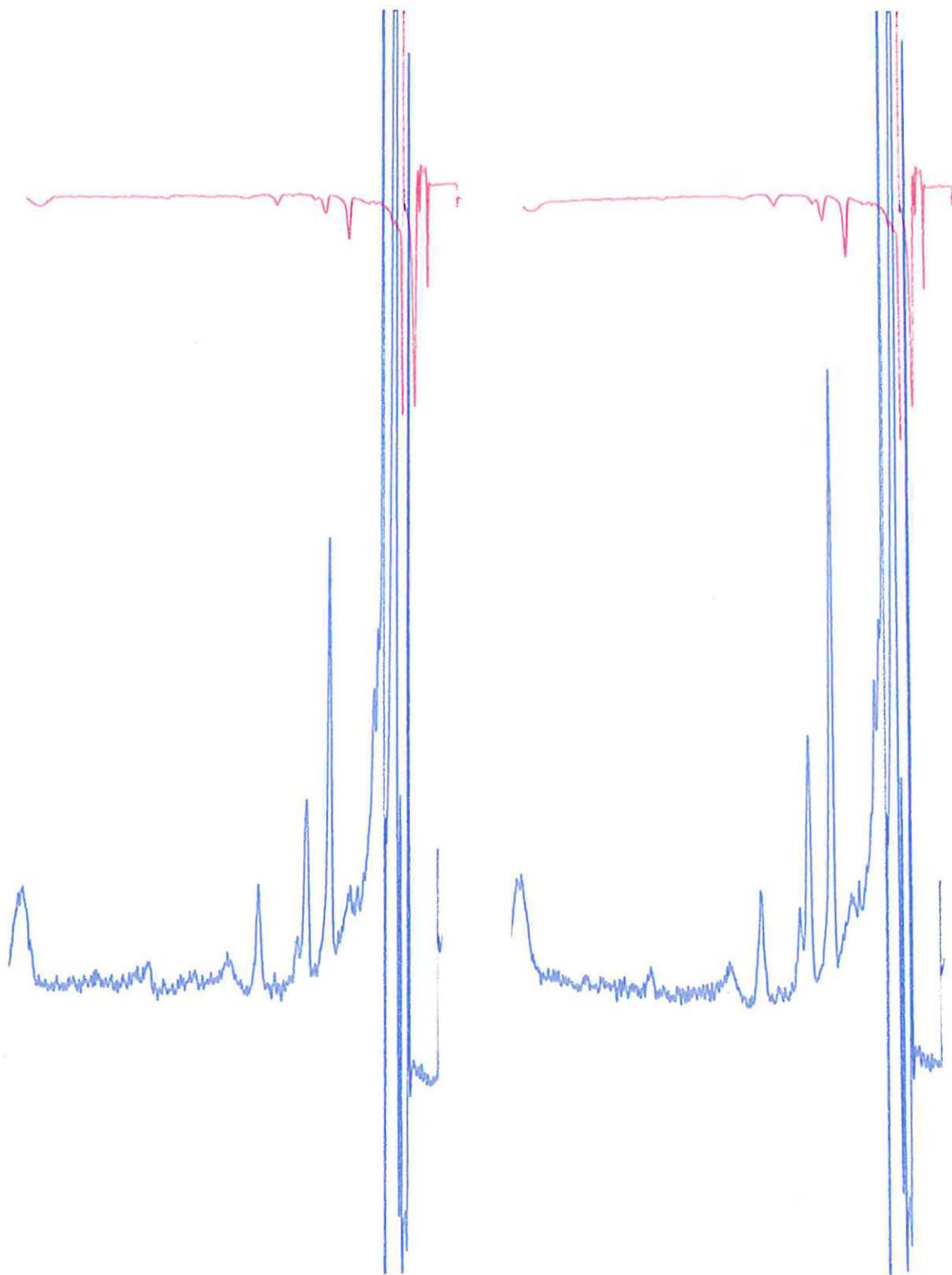
Blanco - ei



Spiked -ei°

12 µg/lp

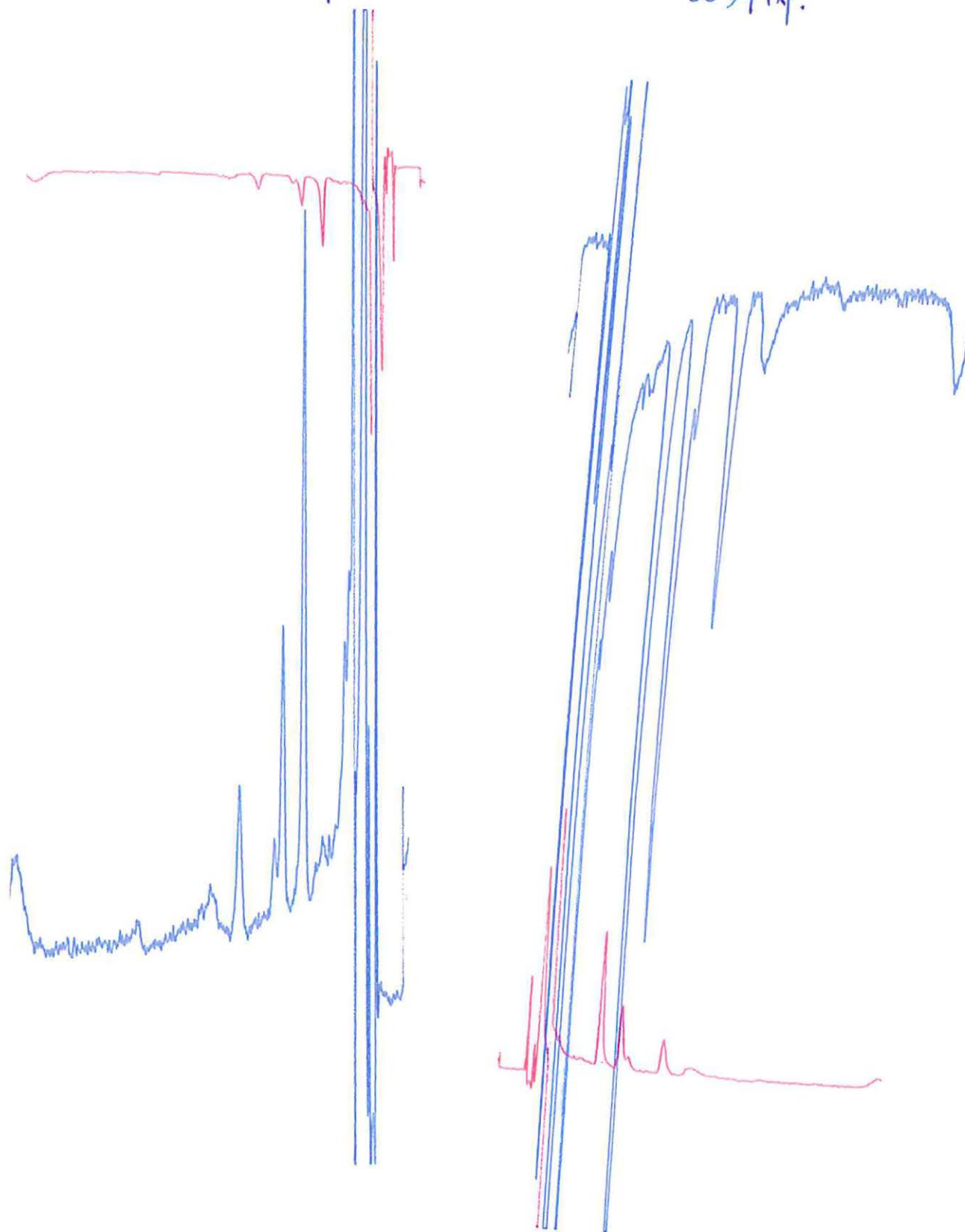
18 µg/lp



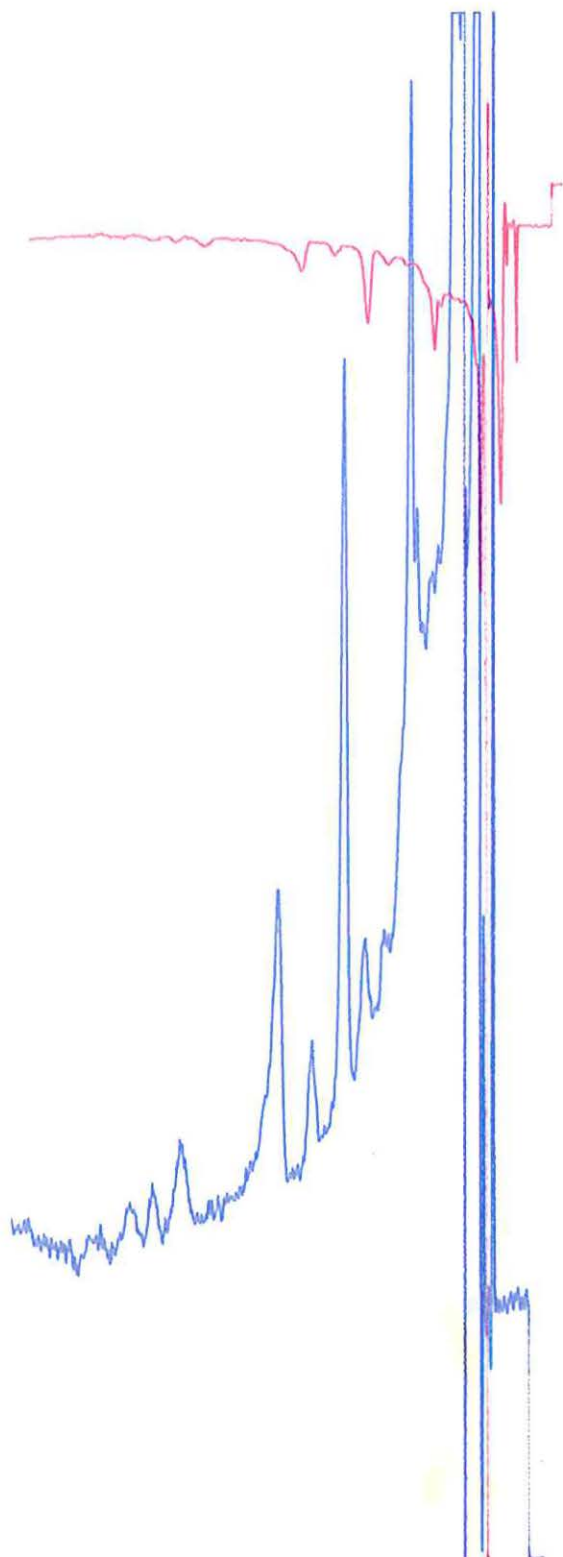
Spiked - ei.

24 μ l/p

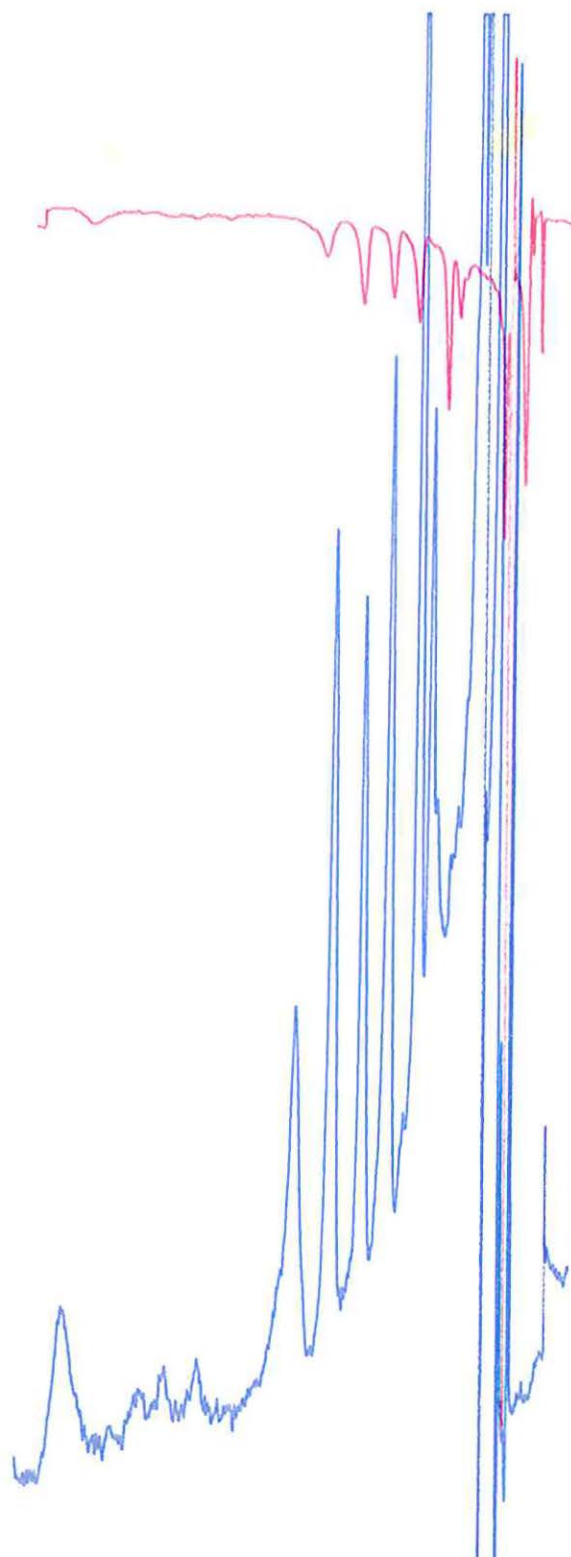
36 μ l/p.



Blanco-epoeder.



Spiked epoeder 24 mg/kg



- nitrofulazon
- Δ nitrofurantoin
- furazolidon
- κ furaltadon

příliš vysoké

